

**Identifikasi Senyawa Herbal Penghambat *Thymidylate Synthase* Lebih Poten
dari 5-*Fluorouracil* Menggunakan Berbagai Metode *Molecular Docking***

SKRIPSI

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



YOGA MULIA PRATAMA

G0011213

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS SEBELAS MARET**

Surakarta

2014

PENGESAHAN SKRIPSI

Skripsi dengan judul: Identifikasi Senyawa Herbal Penghambat *Thymidylate Synthase* Lebih Poten dari-5-Fluorouracil Menggunakan Berbagai Metode *Molecular Docking*

Yoga Mulia Pratama, NIM: G0011213, Tahun: 2014

Telah diuji dan disahkan di hadapan **Dewan Penguji Skripsi**
Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret
Pada Hari Jumat, Tanggal 5 Desember 2014

Pembimbing Utama

Nama : **Dono Indarto, dr., M.Biotech.St, Ph.D**
NIP : 19670104 199601 1 001

Pembimbing Pendamping

Nama : **Yuliana Heri Suselo, dr., M.Sc.**
NIP : 19800718 200604 2 001

Penguji Utama

Nama : **Riza Novierta Pesik, dr., M.Kes.**
NIP : 19651117 199702 2 001

Penguji Pendamping

Nama : **Balgis, dr., M.Sc., CM, FM**
NIP : 19640719 199903 2 003

Surakarta,

Ketua Tim Skripsi

Ketua Program Studi

Ari Natalia Probandari, dr., MPH., Ph.D
NIP. 19751221 200501 2 001

Maryani, dr., M.Si., Sp.MK
NIP. 19661120 199702 2 001

PERNYATAAN

Dengan ini menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi, dan sepanjang pengetahuan penulis juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surakarta, 5 Desember 2014

Yoga Mulia Pratama

G0011213

ABSTRAK

Yoga Mulia Pratama, G0011213, 2014. Identifikasi Senyawa Herbal Penghambat *Thymidylate Synthase* Lebih Poten dari *5-Fluorouracil* Menggunakan Berbagai Metode *Molecular Docking*. Skripsi. Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

Latar Belakang: Pengembangan obat antikanker baru yang selektif merupakan kebutuhan penting. Oleh karena itu dibutuhkan cara efektif untuk skrining senyawa berpotensi obat, yaitu menggunakan *Molecular Docking* atau *in silico*. Tujuan penelitian ini adalah melakukan identifikasi senyawa herbal penghambat *Thymidylate Synthase* (TS) yang lebih poten dari *5-Fluorouracil* (5-FU) dan efektivitas metode *Molecular Docking* yang digunakan.

Metode Penelitian: Sampel struktur tiga dimensi senyawa herbal dari *database* tanaman obat Indonesia (herbaldb.ui.ac.id) dan memenuhi kriteria *Lipinski's rule of five* di-docking dengan struktur tiga dimensi protein TS menggunakan metode *Molecular Docking AutoDock Vina*, *iGEMDOCK*, dan *MolDock*. Hasil akhir konformasi kemudian divisualisasi menggunakan *PyMOL*, dianalisis efektivitas program *docking* serta farmakokinetik dan farmakodinamik secara *in silico*.

Hasil Penelitian: Dari hasil *docking* diketahui lima senyawa herbal memiliki skor *docking* lebih rendah dari *fluorodeoxyuridine monophosphate* (fdUMP) (*AutoDock Vina* = -8,4, *iGEMDOCK* = -134,5, *MolDock* = -44,17) pada semua program *Molecular Docking*, yaitu *lobeline hydrochloride* (*AutoDock Vina* = -9, *iGEMDOCK* = -134,7, *MolDock* = -55,59), *luteolin* (*AutoDock Vina* = -9, *iGEMDOCK* = -134,9, *MolDock* = -44,2), *chitranone* (*AutoDock Vina* = -10,9, *iGEMDOCK* = -137,9, *MolDock* = -47,5), *folic acid* (*AutoDock Vina* = -9,4, *iGEMDOCK* = -196,4, *MolDock* = -62,9), dan *quercetin* (*AutoDock Vina* = -8,7, *iGEMDOCK* = -135,6, *MolDock* = -47,6). Senyawa tersebut memiliki afinitas lebih tinggi daripada fdUMP dan dapat membentuk kompleks yang lebih stabil pada protein TS. Hasil visualisasi kompleks protein-ligan menunjukkan bahwa kelima senyawa tersebut memiliki *binding site* yang sama dengan fdUMP. Akurasi rata-rata dari program *iGEMDOCK*, *MolDock* dan *AutoDock Vina* yaitu 0,89, 0,92, dan 0,93 secara berurutan. Dari hasil analisis *in silico* didapatkan senyawa *chitranone* memiliki farmakokinetik dan farmakodinamik yang baik sebagai obat.

Simpulan Penelitian: *Chitranone* lebih poten dari 5-FU sebagai penghambat TS dari studi *in silico*. *iGEMDOCK* merupakan metode *Molecular Docking* yang paling efektif pada kasus dalam penelitian ini.

Kata kunci: *5-Fluorouracil*, *Molecular Docking*, senyawa herbal, *Thymidylate Synthase*

ABSTRACT

Yoga Mulia Pratama, G0011213, 2014. Identification of Herbal Compounds as *Thymidylate Synthase* Inhibitors more Potent than 5-Fluorouracil using *Docking* Studies. Mini Thesis. Faculty of Medicine, Sebelas Maret University, Surakarta.

Background: Development of new selective anticancer drug is an important necessary. Because of that, some effective way to screen herbal compounds which have good potency for developing drug is needed, one of them is using *Molecular Docking* or *in silico* methods. This study aims to identify herbal compounds as new *Thymidylate Synthase* (TS) inhibitors which more potent than 5-Fluorouracil (5-FU) and analyze the effectiveness of *Molecular Docking* methods that used.

Methods: Three-dimensional structure samples of herbal compounds from Indonesian herbal *database* (herbaldb.ui.ac.id) which passed the Lipinski's rule of five criteria were docked with three-dimensional structure of TS protein using *AutoDock Vina*, *iGEMDOCK*, and *MolDock*. After that, the docking result was visualised using *PyMOL*, analyzed the effectiveness of *docking* methods, and pharmacokinetics and pharmacodynamics status.

Results: The docking result showed that five herbal compounds have docking score lower than *fluorodeoxyuridine monophosphate* (fdUMP) (*AutoDock Vina* = -8,4, *iGEMDOCK* = -134,5, *MolDock* = -44,17) in all *Molecular Docking* program, they are *lobeline hydrochloride* (*AutoDock Vina* = -9, *iGEMDOCK* = -134,7, *MolDock* = -55,59), *luteolin* (*AutoDock Vina* = -9, *iGEMDOCK* = -134,9, *MolDock* = -44,2), *chitranone* (*AutoDock Vina* = -10,9, *iGEMDOCK* = -137,9, *MolDock* = -47,5), *folic acid* (*AutoDock Vina* = -9,4, *iGEMDOCK* = -196,4, *MolDock* = -62,9), and *quercetin* (*AutoDock Vina* = -8,7, *iGEMDOCK* = -135,6, *MolDock* = -47,6). The five compounds have higher affinity to fdUMP and it can forms a stabile complex with TS protein. Visualization of protein-ligand complexes showed that all of five compound have same binding site with fdUMP. Average accuracy in *AutoDock Vina*, *MolDock* and *iGEMDOCK* program is 0.89, 0.92, and 0.93, respectively. Using *in silico* studies, researchers found that *chitranone* have a great pharmacokinetics and pharmacodynamics status as a drug.

Conclusions: *Chitranone* is more potent than 5-FU as TS inhibitors by *in silico* study. *iGEMDOCK* is the most effective *Molecular Docking* method in this case.

Keywords: 5-Fluorouracil, *Molecular Docking*, herbal compound, *Thymidylate Synthase*

PRAKATA

Puji syukur penulis berikan kepada Allah SWT, Tuhan Yang Maha Esa, karena berkat rahmat-Nya yang begitu besar penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Identifikasi Senyawa Herbal Penghambat *Thymidylate Synthase* Lebih Poten dari-5-Fluorouracil Menggunakan Berbagai Metode *Molecular Docking***”.

Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan Program Studi Pendidikan Dokter di FK UNS Surakarta. Dalam proses penyusunan skripsi ini, tentunya penulis tak lepas dari bantuan dan dukungan berbagai pihak. Oleh karena itu, perkenankanlah penulis menyampaikan rasa terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Zainal Arifin Adnan, dr., Sp.PD-KR-FINASIM, selaku Dekan FK UNS Surakarta.
2. Maryani, dr., Msi., Sp.MK selaku Ketua Program Studi Pendidikan Dokter FK UNS Surakarta.
3. Ari Natalia Probandari, dr., MPH., Ph.D selaku Ketua Tim beserta Kusumadewi Eka D., dr., S. Enny M, SH., MH., dan Bp. Sunardi selaku Tim Skripsi FK UNS.
4. Dono Indarto, dr., M.Biotech.St, Ph.D, selaku Pembimbing Utama yang telah memberikan bimbingan, masukan, dan motivasi bagi penulis.
5. Yuliana Heri Suselo, dr., M.Sc, selaku Pembimbing Pendamping yang telah memberikan bimbingan, masukan, dan motivasi bagi penulis.
6. Riza Novierta Pesik, dr., M.Kes, selaku Penguji Utama yang telah memberikan kritik dan saran demi kesempurnaan penulisan skripsi ini.
7. Balgis, dr., M.Sc., CM, FM, selaku Penguji Pendamping yang telah memberikan kritik dan saran demi kesempurnaan penulisan skripsi ini.
8. Seluruh Dosen dan Staf Laboratorium Fisiologi serta Bagian Skripsi FK UNS Surakarta yang telah banyak membantu dalam penelitian dan penyusunan skripsi ini.
9. Dr. rer nat Fajar Rakhman Wibowo yang telah memberikan pengajaran dan pelatihan teknik kimia komputasi.
10. Kedua orang tuaku tercinta, Kukuh Sutyarto dan Dwi Kusumastuti serta adikku Septiana Syahrani yang telah memberikan dukungan untuk penyusunan skripsi ini.
11. Teman-teman Pendidikan Dokter FK UNS angkatan 2011 atas semangat dan dukungannya.
12. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Demikian, saya berharap Allah SWT berkenan membalas semua kebaikan semua pihak yang mau membantu. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu.

Surakarta, 5 Desember 2014

Yoga Mulia Pratama

DAFTAR ISI

PRAKATA	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR SINGKATAN	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
BAB II LANDASAN TEORI	5
A. Kanker	5
1. Definisi	5
2. Epidemiologi	5
3. Etiologi	6
4. Patogenesis	7
5. Terapi Terkini Kanker	9
B. Karakteristik enzim TS	10
1. Struktur enzim TS	10
2. Fungsi enzim TS	12
C. Kemoterapi 5-FU	14
D. Tanaman Herbal Indonesia	16
E. Proses Pengembangan Obat	18
1. Proses Identifikasi Bahan Obat	18
2. Metode Pengembangan Obat	19
3. Tahapan Pengembangan Obat	21
F. <i>Molecular Docking</i>	22
1. Pengertian <i>Molecular Docking</i>	22
2. Dasar <i>Molecular Docking</i>	22

3. Sampling Konformasi Protein-Ligan dengan Algoritma	24
4. Penentuan Afinitas Ikatan Dua Molekul	30
5. Program <i>Molecular Docking</i>	33
6. Aplikasi <i>Molecular Docking</i> pada Pengembangan Obat	34
G. Kerangka Pemikiran	36
H. Hipotesis	37
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	38
A. Jenis Penelitian	38
B. Lokasi Penelitian dan Waktu Penelitian	38
C. Subjek Penelitian	38
D. Besar Sampel	38
E. Alat dan Bahan	39
F. Cara Kerja	42
G. Definisi Operasional	47
H. Rancangan Penelitian	48
I. Analisis Data dan Visualisasi	49
BAB IV HASIL PENELITIAN	50
A. Skrining Karakteristik Senyawa	50
B. Preparasi Protein Target	50
C. Preparasi Ligan	52
D. Validasi Metode <i>Molecular Docking</i>	52
E. <i>Molecular Docking</i>	53
F. Visualisasi Hasil <i>Docking</i>	54
G. Analisis RMSD dan Efektivitas <i>Docking</i>	59
H. Analisis Farmakokinetik	59
1. Analisis Metabolisme CYP450	59
2. Analisis PS	63
I. Analisis Farmakodinamik	63
1. Uji Toksisitas Senyawa	63
2. <i>Reverse Docking</i>	64
J. <i>Clustering</i> Senyawa yang Lebih Poten dari 5-FU Berdasar Struktur dan Karakteristik	65

BAB V PEMBAHASAN	67
BAB VI SIMPULAN DAN SARAN	75
A. Simpulan.....	75
B. Saran.....	75
DAFTAR PUSTAKA.....	77
LAMPIRAN	98

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1. Tahapan Uji Klinis.....	22
Tabel 2. 2. Program <i>Molecular Docking</i> dan Aplikasinya.....	35
Tabel 4. 1. Hasil Validasi Metode <i>Molecular Docking</i>	53
Tabel 4. 2. Daftar Senyawa Herbal dengan Skor <i>Docking</i> Lebih Rendah dari fdUMP pada Program <i>AutoDock Vina</i> , <i>iGEMDOCK</i> , dan <i>MolDock</i> . 54	54
Tabel 4. 3. Hasil Analisis RMSD dan Sebaran Energi Ikatan.....	59
Tabel 4. 4. Nilai <i>Log P</i> Senyawa Herbal yang Lebih Poten dari 5-FU.....	63
Tabel 4. 5. Hasil Uji Toksisitas Senyawa Herbal yang Lebih Poten dari 5-FU dengan Program <i>TEST</i>	64
Tabel 4. 6. Hasil <i>Reverse Docking</i> Senyawa Herbal yang Lebih Poten dari 5-FU.	65

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1. Delapan Ciri Khusus Kanker.....	9
Gambar 2. 2. Tempat Aktif dUMP/FdUMP pada Protein <i>Thymidylate Synthase</i> ..	12
Gambar 2. 3. Aksi Kerja TS dalam Sintesis DNA.	13
Gambar 2. 4. Mekanisme Kerja dan Metabolisme 5-FU di Hati.....	16
Gambar 2. 5. Enam Derajat Kebebasan Interaksi Dua Molekul.	26
Gambar 2. 6. Koordinat Internal Suatu Molekul.....	30
Gambar 3. 1. Rancangan Penelitian.....	48
Gambar 4. 1. Hasil <i>Docking</i> Program <i>AutoDock Vina</i>	56
Gambar 4. 2. Hasil <i>Docking</i> Program <i>iGEMDOCK</i>	57
Gambar 4. 3. Hasil <i>Docking</i> Program <i>MolDock</i>	58
Gambar 4. 4. <i>Site(s) of Metabolism</i> (SOM) pada Senyawa <i>Chitranone</i>	60
Gambar 4. 5. <i>Site(s) of Metabolism</i> (SOM) pada Senyawa <i>Folic acid</i>	60
Gambar 4. 6. <i>Site(s) of Metabolism</i> (SOM) pada Senyawa <i>Lobeline hydrochloride</i>	61
Gambar 4. 7. <i>Site(s) of Metabolism</i> (SOM) pada Senyawa <i>Luteolin</i>	62
Gambar 4. 8. <i>Site(s) of Metabolism</i> (SOM) pada Senyawa <i>Quercetin</i>	62
Gambar 4. 9. Kemiripan Struktur Senyawa yang Ditentukan secara <i>Hierarchical Clustering</i> Menggunakan Program <i>ChemMine</i>	66

DAFTAR SINGKATAN

fdUMP	: <i>fluorodeoxyuridine monophosphate</i>
5-FU	: <i>5-Fluorouracil</i>
TS	: <i>Thymidylate Synthase</i>
dUMP	: <i>deoxyuridine monophosphate</i>
dTMP	: <i>deoxythymidine monophosphate</i>
dNTP	: <i>deoxynucleotide triphosphate</i>
ZINC	: <i>ZINC Is Not Commercial</i>
HTS	: <i>High Throughput Screening</i>
VS	: <i>Virtual Screening</i>
QSAR	: <i>Quantitative Structure-activity Relationship</i>
MA	: <i>Matching Algorithms</i>
IC	: <i>Incremental Construction</i>
ILS	: <i>Iterated Local Search</i>
MC	: <i>Monte Carlo</i>
GA	: <i>Genetic Algorithms</i>
EA	: <i>Evolutionary Algorithms</i>
DE	: <i>Differential Evolution</i>
RMSD	: <i>Root-mean-square Deviation</i>
KISS	: <i>Key Interaction Score System</i>
PDB ID	: <i>Protein Data Bank Identification Code</i>
LD ₅₀ Rat	: <i>Lethal Dose 50 Rat</i>
PS	: <i>Permeability Surface</i>